

## OBSAH

Úvodní slovo překladatelů . . . . .	11
Předmluva k anglickému vydání . . . . .	13
Část I VÝROBA A POUŽITÍ ENZYMŮ . . . . .	15
1 Úvod . . . . .	15
2 Základy průmyslové enzymologie . . . . .	17
2.1 Úvod . . . . .	17
2.2 Specifita enzymů . . . . .	17
2.3 Stabilita enzymů . . . . .	22
2.3.1 Stabilita při skladování . . . . .	22
2.3.2 Stabilita při použití . . . . .	23
2.4 Aktivita enzymů . . . . .	24
2.4.1 Koncentrace enzymu a substrátu . . . . .	24
2.4.2 Doba reakce . . . . .	26
2.4.3 Koncentrace substrátu . . . . .	27
2.4.4 Inhibitory . . . . .	28
2.4.5 Kofaktory . . . . .	30
2.4.6 Allosterické enzymy . . . . .	32
2.4.7 Iontová síla . . . . .	32
2.4.8 Hodnota pH, teplota a stabilita enzymů . . . . .	33
2.5 Stanovení aktivity enzymů . . . . .	35
2.6 Enzymové reaktory . . . . .	36
2.7 Aplikace enzymů při analytických stanoveních . . . . .	40
2.8 Souhrn . . . . .	41
Literatura . . . . .	42
3 Výroba enzymů v provozním měřítku (fermentační techniky) . . . . .	44
3.1 Zdroje enzymů . . . . .	46
3.2 Výroba enzymů . . . . .	47
3.3 Základní faktory ovlivňující výrobu enzymů, jejich měření a regulace . . . . .	49
3.3.1 Míchání a větrání . . . . .	50
3.3.2 Měření parametrů fermentace . . . . .	59
3.3.3 Regulace parametrů fermentace . . . . .	65
3.3.4 Fermentační zařízení . . . . .	71
Literatura . . . . .	77
4 Extrakce, izolace a čištění enzymů v provozním měřítku . . . . .	80
4.1 Úvod . . . . .	80
4.2 Chemické metody extrakce . . . . .	81
4.2.1 Extrakce v alkalickém prostředí . . . . .	81
4.2.2 Lysozym a EDTA (Chelaton 2) . . . . .	81
4.2.3 Tenzidy . . . . .	81
4.2.4 Metoda prudkého ochlazení (cold shock) . . . . .	82

4.2.5	Metoda osmotického soku . . . . .	82
4.3	Fyzikální metody extrakce . . . . .	83
4.3.1	Použití ultrazvuku (sonikace) . . . . .	83
4.3.2	Metoda prudkého zmrázení a následného tání . . . . .	84
4.3.3	Metoda využívající střížných sil v tuhém stavu (solid shear) . . . . .	85
4.3.4	Drcení a mletí s brusnými materiály . . . . .	85
4.3.5	Metoda využívající střížných sil v kapalině (liquid shear) . . . . .	86
4.4	Izolace a čištění enzymů . . . . .	87
4.4.1	Odstraňování nukleových kyselin . . . . .	87
4.4.2	Srážecí metody . . . . .	90
4.4.2	Ultrafiltrace . . . . .	92
4.4.4	Koncentrace mrazovou sublimací (lyofilizací, kryosikací) . . . . .	94
4.4.5	Gelová chromatografie . . . . .	95
4.4.6	Chromatografie na měničích iontů . . . . .	99
4.4.7	Afinitní chromatografie . . . . .	102
4.4.8	Nespecifické adsorbenty . . . . .	103
4.4.9	Elektroforetické metody . . . . .	105
	Literatura . . . . .	108
5	Příprava a použití imobilizovaných enzymů . . . . .	113
5.1	Přehled způsobů imobilizace enzymů . . . . .	113
5.1.1	Adsorpce . . . . .	113
5.1.2	Okluze (zachycení enzymu ve struktuře gelu) . . . . .	114
5.1.3	Zesítnění . . . . .	115
5.1.4	Kovalentní vazba . . . . .	116
5.2	Výběr metody k imobilizaci enzymu . . . . .	118
5.3	Výběr enzymového reaktoru . . . . .	121
5.4	Vlastnosti imobilizovaných enzymů . . . . .	123
5.4.1	Stabilita . . . . .	124
5.4.2	Kinetické vlastnosti . . . . .	124
5.5	Použití imobilizovaných enzymů . . . . .	126
5.5.1	Analýza . . . . .	127
5.5.2	Preparativní použití . . . . .	129
5.5.3	Potravinářský průmysl . . . . .	130
5.5.4	Lékařství . . . . .	130
5.5.5	Enzymy vázané na membrány jako modelové systémy . . . . .	131
	Literatura . . . . .	131
6	Využití enzymů v průmyslových procesech . . . . .	135
6.1	Teoretické úvahy . . . . .	135
6.1.1	Přednosti použití enzymů . . . . .	135
6.1.2	Kritéria pro použití enzymů . . . . .	135
6.1.3	Výběr enzymu a regulace jeho působení . . . . .	136
6.2	Použití glykosidas . . . . .	138
6.2.1	Plisňová $\alpha$ -amylasa . . . . .	138
6.2.2	Bakteriální $\alpha$ -amylasa . . . . .	139
6.2.3	Obilná (cereální) $\alpha$ -amylasa . . . . .	141
6.2.4	Amyloglukosidasa (glukoamylasa) . . . . .	141
6.2.5	Pektinasy . . . . .	142
6.2.6	Celulasy . . . . .	142
6.2.7	Hemicelulasy (včetně $\beta$ -glukanasy) . . . . .	143
6.2.8	Invertasa . . . . .	143

6.2.9	Laktasa ( $\beta$ -galaktosidasa)	144
6.2.10	Dextranasa	144
6.2.11	Lysozym	144
6.3	Využití proteas	145
6.3.1	Papain	145
6.3.2	Trypsin a chymotrypsin	145
6.3.3	Pepsin	146
6.3.4	Chymosin	146
6.3.5	Plisňové proteasy	147
6.3.6	Bakteriální proteasy	147
6.4	Využití ostatních hydrolas	148
6.4.1	Lipasy	148
6.4.2	Penicilinacylasy (amidasy)	148
6.5	Využití oxidoreduktas	149
6.5.1	Glukosaoxidasa	149
6.5.2	Katalasa	149
6.5.3	Lipoxidasa	150
6.6	Využití ostatních enzymů	150
6.6.1	Glukosaisomerasa	150
	Literatura	150
Část II ÚDAJE K PRŮMYSLOVÉ APLIKACI ENZYMŮ		153
1	Úvod	153
2	Údaje o enzimech	154
2.1	Způsob shromažďování údajů	154
2.2	Komentář k údajům o průmyslových enzimech	154
2.3	Komentář k údajům o enzimech určených k výzkumu a k analytickým účelům	157
	Literatura	185
3	Základní údaje o fermentačních systémech a jejich charakteristika	187
3.1	Fermentory	187
3.1.1	Konstrukce a výroba laboratorních fermentorů	195
3.2	Výroba enzymů v provozním měřítku	203
3.3	Měření koncentrace rozpuštěného kyslíku a jeho regulace	203
3.3.1	Elektrody	203
3.3.2	Měřicí a regulační zařízení	204
3.4	Měření a regulace pH	205
3.4.1	Elektrody	205
3.4.2	Měřicí a regulační zařízení	205
3.5	Měření a regulace teploty	206
3.5.1	Termistory	206
3.5.2	Přístroje na principu změny odporu	206
3.5.3	Termoelektrické články	206
3.5.4	Měřicí a regulační zařízení	207
3.5.5	Zapisovače a tiskárny	207
3.6	Ostatní zařízení	208
3.6.1	Indikátory a indikační regulátory	208
3.6.2	Vzduchové filtry	209
3.6.3	Konektory	209
3.6.4	Spojky (hřídele míchadla)	209
3.6.5	Průtokoměry	209

3.6.6	Dávkovací čerpadla . . . . .	209
3.6.7	Směšovače a homogenizátory . . . . .	210
3.6.8	Motory a tachodynamy . . . . .	210
3.6.9	Regulátory otáček motorů . . . . .	211
3.6.10	Analýzátory kyslíku v plynu . . . . .	211
3.6.11	Části zařízení z plastů . . . . .	211
3.6.12	Manometry . . . . .	211
3.6.13	Měření redoxního potenciálu . . . . .	212
3.6.14	Ucpávky a těsnění . . . . .	212
3.6.15	Časové spínače . . . . .	212
3.7	Grafická a schematická znázornění . . . . .	213
4	Praktické aspekty průmyslového čištění enzymů . . . . .	219
4.1	Úvod . . . . .	219
4.2	Inaktivace enzymů . . . . .	219
4.3	Zásobníky a pomocná zařízení . . . . .	220
4.3.1	Skleněné nádoby . . . . .	220
4.3.2	Kovové nádoby . . . . .	220
4.3.3	Nádoby z plastů . . . . .	221
4.4	Doprava kapalin . . . . .	222
4.4.1	Spojování nádob . . . . .	222
4.4.2	Čerpadla . . . . .	222
4.5	Rozrušení bakteriálních buněk . . . . .	223
4.5.1	Resuspendování . . . . .	223
4.5.2	Využití střížných sil (smykového gradientu) v kapalně fázi (liquid shear) . . . . .	224
4.5.3	Mletí . . . . .	225
4.6	Odstřeďování . . . . .	225
4.6.1	Vsádkové (periodické) odstředivky . . . . .	226
4.6.2	Kontinuální průtokové odstředivky . . . . .	226
4.7	Koncentrace . . . . .	229
4.7.1	Ultrafiltrace . . . . .	229
4.7.2	Dialýza . . . . .	232
4.8	Chromatografie . . . . .	232
4.8.1	Kolony . . . . .	232
4.8.2	Gelová chromatografie . . . . .	234
4.8.3	Chromatografie na měničích iontů . . . . .	239
4.8.4	Afinitní chromatografie . . . . .	243
	Literatura . . . . .	244
5	Technika imobilizace enzymů . . . . .	245
5.1	Vliv kovalentní vazby na aktivitu enzymu . . . . .	245
5.2	Vazba prostřednictvím diazoniových skupin aromatických aminokyselin . . . . .	245
5.3	Vazba prostřednictvím isothiokyanátových skupin po reakci aminoskupin s thiofosgenem . . . . .	251
5.4	Vazba prostřednictvím isokyanátových skupin po reakci aminoskupin s fosgenem . . . . .	255
5.5	Vazba prostřednictvím acylazidových skupin připravených reakcí hydrazidů s kyselinou dusitou . . . . .	256
5.6	Vazba prostřednictvím imidokarbonátových skupin po reakci hydroxylových skupin s bromkyanem . . . . .	257
5.7	Vazba prostřednictvím cyklických karbonátových skupin připravených reakcí hydroxylových skupin s ethylchlorformátem (chlormravenčanem ethylnatým) . . . . .	259
5.8	Vazba prostřednictvím thiolaktonových skupin vytvořených reakcí cysteinových zbytků s dicyklohexylkarbodiimidem . . . . .	260

5.9	Vazba prostřednictvím thiolových skupin . . . . .	261
5.10	Vazba prostřednictvím aldehydových skupin vzniklých v kyselém prostředí z acetalových skupin . . . . .	261
5.11	Vazba prostřednictvím arylfluoridů . . . . .	262
5.12	Vazba prostřednictvím alkyljodidových skupin . . . . .	263
5.13	Vazba prostřednictvím alkylbromidových skupin . . . . .	264
5.14	Vazba prostřednictvím alkylchloridových skupin . . . . .	264
5.15	Vazba prostřednictvím aktivních chloridových skupin . . . . .	265
5.16	Vazba prostřednictvím karboxylových skupin aktivovaných 1-cyklohexyl-3-(2-morfolinoethyl)karbodiimidmethoxy- <i>p</i> -toluensulfonátem . . . . .	270
5.17	Vazba prostřednictvím karboxylových skupin aktivovaných N,N'-dicyklohexylkarbodiimidem . . . . .	271
5.18	Vazba prostřednictvím karboxylových skupin aktivovaných 1-ethyl-3-(3-methylamino-propyl)karbodiimidem . . . . .	271
5.19	Vazba prostřednictvím karboxylových skupin aktivovaných Woodwardovým činidlem K (N-ethyl-5-fenylisoxazolium-3'-sulfonátem) . . . . .	272
5.20	Aktivace nosičů Ugiho reakcí . . . . .	274
5.21	Aktivace nosičů pomocí soli přechodných kovů . . . . .	279
	Literatura . . . . .	289
6	Průmyslová aplikace enzymů . . . . .	295
6.1	Úvod . . . . .	295
6.2	Glykosidasy . . . . .	295
6.2.1	Plišňová $\alpha$ -amylasa . . . . .	295
6.2.2	Bakteriální $\alpha$ -amylasa . . . . .	296
6.2.3	Cereální (obilná) $\alpha$ -amylasa . . . . .	299
6.2.4	Amyloglukosidasa (glukoamylasa) a pululanasa . . . . .	299
6.2.5	Pektinasy . . . . .	300
6.2.6	Celulasy . . . . .	301
6.2.7	Hemicelulasy . . . . .	302
6.2.8	Invertasa . . . . .	302
6.2.9	Laktasa ( $\beta$ -galaktosidasa) . . . . .	302
6.2.10	Dextranasa . . . . .	302
6.2.11	Lysozym . . . . .	303
6.3	Proteasy . . . . .	303
6.3.1	Papain . . . . .	303
6.3.2	Trypsin (chymotrypsin) . . . . .	304
6.3.3	Pepsin . . . . .	305
6.3.4	Chymosin (a jeho náhražky) . . . . .	305
6.3.5	Plišňové proteasy . . . . .	305
6.3.6	Bakteriální proteasy . . . . .	306
6.4	Jiné hydrolasy . . . . .	307
6.4.1	Lipasy . . . . .	307
6.4.2	Penicilinacylasy . . . . .	307
6.5	Oxidoreduktasy . . . . .	308
6.5.1	Glukosaoxidasa . . . . .	308
6.5.2	Katalasa . . . . .	308
6.5.3	Lipoxidasa . . . . .	308
6.6	Jiné enzymy . . . . .	309
6.6.1	Glukosaisomerasa . . . . .	309
	Literatura . . . . .	309
	Rejstřík . . . . .	332